



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 275 407**

⑫ Número de solicitud: 200501198

⑬ Int. Cl.:
G01N 33/12 (2006.01)

⑭

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

⑮ Fecha de presentación: **17.05.2005**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **01.06.2007**

Fecha de la concesión: **28.02.2008**

Fecha de modificación de las reivindicaciones:
06.08.2007

⑰ Fecha de anuncio de la concesión: **16.03.2008**

⑱ Fecha de publicación del folleto de la patente:
16.03.2008

⑲ Titular/es: **Universidad Complutense de Madrid
Rectorado - Avenida de Séneca, 2
28040 Madrid, ES**

⑳ Inventor/es: **Rey Muñoz, Ana Isabel y
López Bote, Clemente José**

㉑ Agente: **No consta**

㉒ Título: **Procedimiento para diferenciar la alimentación del cerdo ibérico durante el cebo.**

㉓ Resumen:

Procedimiento para diferenciar la alimentación del cerdo ibérico durante el cebo.

Se ha desarrollado un procedimiento que permite diferenciar si los cerdos ibéricos han sido cebados en sistemas extensivos (montanera) o con piensos compuestos. Para ello se han identificado una serie de compuestos liposolubles diferentes a los ácidos grasos cuya presencia y concentración se encuentra relacionada con el consumo de bellota y/o de hierba. Se ha identificado la presencia y cuantificado la concentración de estos compuestos en los alimentos (bellota, hierba, piensos) y en el tejido adiposo del cerdo. A partir de phi se han establecido relaciones cuantitativas entre los kilogramos engordados en montanera, el tiempo de estancia en la misma y la concentración de los compuestos en los tejidos del cerdo. El procedimiento relaciona cuantitativamente las variables consideradas con fiabilidad.

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para diferenciar la alimentación del cerdo ibérico durante el cebo.

5 **Objeto de la invención**

La presente invención, según se expresa en el enunciado de esta memoria descriptiva, se encuadra dentro del sector de la Producción Animal. Más concretamente, se refiere a un procedimiento analítico que permite diferenciar el origen productivo del cerdo ibérico mediante el análisis de su grasa subcutánea. El procedimiento está basado en la cuantificación de determinados compuestos liposolubles por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Estado de la técnica

El cerdo Ibérico es un cerdo autóctono de la Península Ibérica que se ha adaptado durante siglos para conseguir un elevado aprovechamiento del ecosistema natural de encinas y alcornoques que constituye la dehesa. Su perfecta adaptación al medio ha propiciado su supervivencia como raza y sistema productivo durante milenios y ha permitido la conservación del bosque típico mediterráneo, muy amenazado por muchos condicionantes relacionados con el desarrollo industrial. En la actualidad los elevados costes productivos asociados a la producción extensiva y al propio manejo y mantenimiento de las dehesas solo se puede justificar económicamente por el elevado precio que alcanzan sus producciones. Este equilibrio tiene muchas connotaciones positivas que van más allá del mantenimiento de la biodiversidad y del ecosistema natural mediterráneo: desarrollo económico de zonas geográficas de baja renta, productos cárnicos claramente diferenciados del contexto cárnico mediterráneo, lo que adecuadamente utilizado puede ayudar notablemente al desarrollo del mercado exterior de productos cárnicos españoles, etc.

Sin embargo, todo este frágil equilibrio se ve continuamente amenazado por prácticas fraudulentas que pretenden comercializar animales alimentados con piensos compuestos como si se tratara de cerdos de montanera. En este contexto se hace absolutamente imprescindible un conjunto de medidas de control para evitar el fraude. Algunas iniciativas interesantes las constituyen los controles en origen de los cerdos y las dehesas llevados a cabo por las distintas denominaciones de origen, la Asociación Interprofesional del Cerdo Ibérico (ASICI, Asociación Interprofesional del Cerdo Ibérico. Recinto Ferial-Pabellón Banesto. Apdo. de Correos 247. 06300 Zafra, Badajoz. Laboratorio Autorizado Junta Extremadura No 06-008 <http://www.asici.com/>) e incluso algunas industrias privadas. No obstante, además de estos controles se hace preciso frecuentemente disponer de herramientas analíticas que permitan diferenciar y tipificar los cerdos en casos de litigio. El desarrollo de la biología molecular en los últimos años está permitiendo disponer de una clasificación fiable de la base genética de los animales. Sin embargo, las técnicas hasta ahora utilizadas para diferenciar el tipo de alimentación están quedando claramente superadas, al producirse y comercializarse piensos compuestos capaces de imitar con gran precisión los perfiles de ácidos grasos demandados para los diferentes tipos comerciales.

Un aspecto esencial es que los cerdos alimentados en extensivo ingieren una amplia gama de productos inalterados. Al ser el animal el que accede a la planta, ésta mantiene toda una serie de compuestos sin deteriorarse. Cualquier procedimiento de deshidratación, molienda o simplemente conservación (por no mencionar el tratamiento térmico, aunque sea tan somero como el que se produce durante el granulado), hace que la concentración de muchos de estos compuestos descienda marcadamente en el alimento, de modo que la absorción y acumulación se vea afectada muy negativamente.

La sustitución del sistema tradicional de cebo del cerdo Ibérico en la dehesa por otras alternativas es un aspecto controvertido porque se puede interpretar como una adulteración del proceso. Al tratarse de un mercado de difícil clasificación, éstas prácticas se han prestado con frecuencia al fraude para el consumidor, por lo que no es extraño que existan reticencias sociales a la modificación de las pautas tradicionalmente utilizadas en la producción de Cerdos Ibéricos.

En los últimos años existe una revitalización del sector porcino ibérico que se atribuye a un aumento del nivel de vida de la sociedad y a una revalorización de productos artesanales de calidad. Debido al alto precio de sus productos, el cerdo Ibérico producido por el sistema tradicional y cebado en montanera encuentra su rentabilidad, que se basa en una imagen de calidad para un mercado no masivo, pero selecto, exigente y dispuesto a pagar un alto precio.

Se trata de una producción que tiene pocas similitudes con la de híbridos porcinos altamente seleccionados y producidos en sistemas intensivos (diferente genética, alimentación, engrasamiento, peso al sacrificio, etc.) y constituye un ejemplo para la industria cárnica de elaboración de productos de alta calidad, con un proceso de producción comparable al más exquisito producto de lujo, al obtenerse a partir de él los productos cárnicos más caros del mundo. El mercado especializado al que se destina está dispuesto a pagar un elevado precio por lo que consume, pero exige a cambio unas características de calidad estrictas. Como en cualquier otro producto de lujo, una mínima desviación provoca una marcada depreciación.

Simultáneamente, una parte de la sociedad cada vez más numerosa demanda productos cárnicos de calidad, pero sin precios tan elevados como los que corresponden a los Cerdos Ibéricos producidos en montanera. Esto hace que la producción del cerdo Ibérico (o cruces del mismo) con sistemas alternativos a la montanera sea una posibilidad de creciente interés.

En consecuencia, la producción del cerdo Ibérico se está diversificando y cubre un rango de calidades muy amplio que va desde la producción más artesanal y con una base genética en pureza, hasta la producción de cerdos cruzados en sistemas intensivos, pero prestando cuidado a los atributos de calidad (peso de sacrificio superior a los 120 kg, animales castrados, cuidada alimentación, etc.).

La clasificación de la producción cárnica del cerdo Ibérico presenta importantes lagunas y propicia que surjan prácticas especulativas con el objetivo de comercializar productos obtenidos de animales no vinculados a la dehesa, como si hubieran sido producidos en montanera. Estas prácticas producen un beneficio económico muy elevado, por lo que su erradicación es muy difícil.

La clasificación de canales en el ganado porcino ibérico no tiene apenas ningún punto en común con el resto de los procedimientos utilizados en otros animales de abasto. Las peculiaridades de este sistema productivo hacen que los criterios generalmente utilizados en la clasificación de canales (engrasamiento, edad de sacrificio, etc.) tengan un escaso valor. La variable más importante en la clasificación de canales en el caso del cerdo Ibérico es, sin duda, el origen productivo. El interés de los diferentes métodos debe ser por tanto establecer si el animal ha estado vinculado durante su ciclo productivo (especialmente en la etapa de cebo) a la base territorial de la dehesa.

La clasificación de los animales según el sistema productivo (alimentación recibida durante el cebo) presenta una serie de dificultades, derivadas fundamentalmente de la gran heterogeneidad genética, de disponibilidad y tipo de alimento, de edad de sacrificio, etc.

Debido a las características tan específicas del componente graso de los cerdos producidos en montanera, la mayor parte de los esfuerzos analíticos se han centrado hasta el momento en este tejido. Durante años se ha utilizado la medida del punto de fusión de la grasa en los mataderos como procedimiento para clasificar el origen de las canales según su alimentación, estableciéndose los 30°C como valor de referencia para discriminar entre cerdos de montanera y de recebo (O.M. 711-88, BOE 8 de noviembre de 1988).

Al comprobarse que el punto de fusión es una medida fácilmente modificable mediante un control de la composición de las grasas del pienso compuesto, en la actualidad se llevan a cabo análisis mucho más rigurosos en los que se contabilizan la totalidad de ácidos grasos del tejido adiposo subcutáneo, estableciéndose límites máximos y mínimos para cada uno de ellos y para cada tipo comercial, con el ánimo de reducir las posibilidades de fraude (www.asici.com). La ASICI publica todos los años el rango aceptable de los ácidos grasos mayoritarios para cada tipo comercial: montanera, recebo y pienso. No obstante, recientemente se han comercializado piensos que permiten obtener un perfil de ácidos grasos muy similar al de los cerdos en montanera, haciendo cada vez más difícil su clasificación correcta (Durán y Lizaso, 1997. *Anaporc* 170, 82-106; López Bote *et al*, 1998. *Meat Science* 49, 17-27). Actualmente las diferencias entre los cerdos clasificados como pienso, recebo o bellota son muy pequeñas, existiendo una continua controversia entre productores y compradores. Por ejemplo, según las recomendaciones de ASICI, un cerdo con menos de un 50% de ácido oleico se considera que ha sido alimentado con pienso. Si tiene un 52% se clasifica como bellota, y si presenta valores intermedios se considera de recebo. Es decir, en sólo dos unidades de porcentaje se sitúan los tres tipos comerciales. Considerando la gran variabilidad biológica característica de los sistemas de producción extensivos, resulta un margen excesivamente estrecho. Por este motivo no es infrecuente que se produzcan discrepancias entre los resultados analíticos de cerdos del mismo Zote, entre distintos laboratorios, e incluso entre muestras repetidas a partir de un mismo animal.

En consecuencia, la clasificación de canales y carnes del cerdo Ibérico según el sistema productivo se encuentra en una situación complicada, existiendo una bolsa de fraude de creciente magnitud. En las circunstancias actuales no parece razonable basar todos los criterios de clasificación exclusivamente en la composición de ácidos grasos. Por otra parte, la medida del tejido adiposo por técnicas basadas en el espectro infrarrojo cercano (NIR) es más económica y rápida que el análisis de los ácidos grasos por cromatografía de gases (González, 1997. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Extremadura), pero la determinación es menos exacta y está sujeta a los mismos problemas relacionados con la manipulación de la alimentación.

Se han propuesto algunas alternativas a la analítica convencional del punto de fusión o composición de los ácidos grasos de la grasa del cerdo Ibérico, como el estudio de alguna fracción específica de la grasa o el análisis de la ubicación de los ácidos grasos en el triglicérido (Díaz *et al.*, 1996. *Food Chemistry* 55,383-387). Algunas de ellas exigen un considerable y largo proceso analítico que no se puede realizar en situaciones comerciales. Para estimar el interés de los diferentes procedimientos propuestos es preciso tener en cuenta no sólo la capacidad de discriminación, sino la necesidad de personal altamente especializado, de costosos equipos analíticos, así como el tiempo total de análisis.

Existen algunos trabajos que tratan de diferenciar el origen productivo de los cerdos ibéricos mediante la determinación de presencia o ausencia de neofitadieno en la grasa intramuscular (Patente ES2162564) o utilizando análisis isotópicos (Patente ES2100130).

Recientemente (Real Decreto 1083/2001, BOE de 15 de octubre) se ha implantado una Norma de Calidad con el objetivo de establecer procedimientos mucho más estrictos de control que permitan reducir el fraude generado alrededor de la producción de cerdo ibérico. Más recientemente (Orden APA/213/2003, BOE de 11 de febrero) se han establecido las normas de desarrollo de esta Norma de Calidad, fijándose la necesidad de establecer una serie de

controles e informes de campo y visitas de control a las explotaciones. No obstante, tanto la norma de calidad como el desarrollo de la misma señalan el interés de efectuar análisis tisulares a partir de muestras tomadas en las canales de los animales, debido a que las visitas de inspección son una interesante herramienta de refuerzo, pero no del todo efectivas para controlar posibles prácticas fraudulentas.

Descripción de la invención

Un aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento para diferenciar la alimentación del cerdo ibérico durante el periodo de cebo mediante la cuantificación de compuestos específicos del cebo en montanera, y utilizarlos para establecer el origen de las canales del cerdo ibérico. Para ello se determinan las cantidades de alfa tocoferol y gamma tocoferol en la grasa subcutánea del cerdo puesto que se han identificado en elevadas concentraciones en los alimentos disponibles en montanera, como son la bellota y la hierba, y se absorben y acumulan en los tejidos del cerdo. De hecho, se ha establecido una relación cuantitativa entre el contenido de gamma tocoferol y los kg engordados en montanera, y una relación cuadrática entre la relación gamma tocoferol/alfa tocoferol y los kg engordados.

De esta forma la invención comprende la cuantificación de dos isómeros de vitamina E en la grasa de cerdos ibéricos: gamma tocoferol, que el animal ingiere fundamentalmente mediante el consumo de bellotas, y alfa tocoferol, que el animal ingiere sobre todo mediante el consumo de hierba.

El gamma tocoferol se absorbe y se acumula en cantidades directamente relacionadas con el consumo de bellota tal y como se ilustra en la figura 1. Por tanto se puede establecer una relación entre el contenido en gamma tocoferol y los kilogramos engordados. Dicho compuesto aparece en cantidades mínimas en los cerdos alimentados con piensos por lo que la determinación del contenido en gamma tocoferol permite diferenciar aquellos cerdos cebados exclusivamente a base de piensos compuestos, de aquellos que han sido cebados con bellota exclusivamente e incluso de aquellos que han ingerido una cierta cantidad de bellota y han sido terminados con piensos. De hecho, los animales alimentados con pienso tienen concentraciones de gamma tocoferol por gramo de grasa inferiores a $2 \mu\text{g/g}$ y los animales de montanera tienen concentraciones de gamma tocoferol por gramo de grasa superiores a $2 \mu\text{g/g}$.

Los animales alimentados con pienso tienen un elevado contenido en alfa tocoferol, sin embargo, la relación gamma tocoferol/alfa tocoferol (Figura 3) también nos permite diferenciar a los animales según su origen productivo.

Otro aspecto de esta invención se refiere a los valores de gamma y alfa tocoferol que determinan la alimentación que ha recibido el cerdo. Se considera animal cebado en montanera, atendiendo a los criterios publicados en la norma de calidad (habiendo engordado al menos 4@ y siendo 1@ = 11,5 kg), aquel que tiene una concentración de gamma tocoferol de $5,11 \mu\text{g/g} \pm 0,92$ y una relación gamma/alfa tocoferol de $0,49 \mu\text{g/g} \pm 0,09$. Por otro lado, se considera animal de recebo (habiendo engordado al menos 2,5@) aquel que tiene un contenido en gamma tocoferol de $3,88 \mu\text{g/g} \pm 0,60$ y una relación gamma/alfa tocoferol de $0,40 \mu\text{g/g} \pm 0,06$. Asimismo, se considera animal de pienso aquel que tiene una concentración de gamma tocoferol de $1,17 \mu\text{g/g} \pm 0,93$ y una relación gamma/alfa de $0,098 \mu\text{g/g} \pm 0,094$.

Estos valores de referencia para los distintos tipos de alimentación se han determinado de acuerdo con las siguientes ecuaciones:

- ecuación que relaciona el contenido en gamma tocoferol (y) y las arrobas engordadas (x):

$$y = -0,066 (\pm 0,023) x^2 + 1,2499 (\pm 0,1495) x + 1,1715 (\pm 0,194)$$

- ecuación que relaciona el contenido entre gamma/alfa tocoferol (y) y las arrobas engordadas (x):

$$y = -0,016 (\pm 0,0024) x^2 + 0,1612 (\pm 0,015) x + 0,098 (\pm 0,197)$$

El procedimiento para la determinación del contenido en gamma y alfa tocoferol comprende las siguientes etapas:

1. Saponificación de la grasa. Para llevar a cabo este proceso se parte de una cantidad mínima de muestra de tan sólo 0,05 g y se somete a la acción de hidróxido potásico en presencia de calor y de un potente antioxidante como es el pirogalol.
2. Extracción y concentración de los compuestos no saponificados. Se realiza mediante la adición de solventes orgánicos como el éter de petróleo conteniendo antioxidantes y agua que una vez recogidos son evaporados mediante corriente de nitrógeno para evitar su oxidación.
3. Cromatografía de líquidos. Permite la separación de los tocoferoles gamma y alfa en una columna apolar en fase reversa utilizando solventes polares (metanol y agua), apareciendo ambos compuestos a un tiempo inferior a 10 minutos.

Breve descripción de las figuras

Para facilitar la comprensión de las principales características de la invención y formando parte integrante de esta memoria descriptiva, se acompaña una serie de figuras. Con carácter ilustrativo y no limitativo se ha representado lo siguiente:

Figura 1. Representa el contenido de μg de gamma tocoferol/g de grasa en muestras procedentes de 5 grupos de cerdos ibéricos analizadas según el procedimiento descrito en la presente invención y las arrobas que engordaron. La ecuación que relaciona el contenido en gamma tocoferol (y) y las arrobas engordadas (x) es:

$$y = -0.066 (\pm 0.023) x^2 + 1.2499 (\pm 0.1495) x + 1.1715 (\pm 0.194)$$

$$R^2 = 0.9101$$

siendo R^2 el coeficiente de determinación.

Figura 2. Representa el contenido de μg de alfa tocoferol/g de grasa en muestras procedentes de 5 grupos de cerdos ibéricos analizadas según el procedimiento descrito en la presente invención y las arrobas que engordaron. La ecuación que relaciona el contenido en alfa tocoferol (y) y las arrobas engordadas (x) es:

$$y = 0,0625x^2 + 0,4556 x + 8,5186$$

$$R^2 = 0,2644$$

siendo R^2 el coeficiente de determinación.

Figura 3. Representa la relación entre el ratio de $\mu\text{g/g}$ de gamma tocoferol/alfa tocoferol y los kg engordados por los cerdos ibéricos durante su estancia en montanera. La ecuación que relaciona el ratio de gamma tocoferol/alfa tocoferol (y) y las arrobas engordadas (x) es:

$$y = -0.016 (\pm 0.0024) x^2 + 0.1612 (\pm 0.015) x + 0.098 (\pm 0.197)$$

$$R^2 = 0.8734$$

siendo R^2 el coeficiente de determinación.

Modo de realización de la invención

La presente invención se detalla con la presentación de los siguientes ejemplos:

Ejemplo 1

Procedimiento analítico

En primer lugar se obtuvieron las muestras de tejido adiposo subcutáneo que, inmediatamente tras su obtención, se preservaron de la luz y se mantuvieron en congelación a, al menos, -20°C hasta el momento de proceder a su análisis.

Se pesó por duplicado una cantidad de 0,05 g de tejido adiposo subcutáneo de la capa externa previamente congelada, en una balanza de precisión de $\pm 0,01$ g. La muestra pesada se introdujo en un tubo topacio con tapón de rosca para evitar la incidencia de la luz natural o artificial. A continuación, se añadieron a los tubos que contenían la muestra los siguientes reactivos en el orden indicado: (1) 2 ml de una solución de pirogalol al 3% en etanol (p/v); (2) 100 μl de cloruro potásico al 1,15% (p/v) y (3) 0,3 ml de hidróxido potásico al 50% (p/v) y se hizo pasar una corriente de nitrógeno procediendo a su cierre inmediato. Los tubos se agitaron bien en un vortex durante un minuto y se procedió a la incubación en un baño de agua en agitación a 70°C durante 30 minutos. Transcurrido ese tiempo, los tubos se introdujeron en hielo y se dejaron enfriar en la oscuridad.

Para poder calcular el % de recuperación de los compuestos objeto de la presente invención, se pesó adicionalmente 0,05 g de una de las muestras a analizar y se procedió de igual forma que como se ha descrito hasta ahora, con la salvedad de que se añadió al tubo que contenía la muestra una cantidad conocida de los patrones puros (1 μg de cada uno de los compuestos).

ES 2 275 407 B2

Una vez enfriados los tubos que contenían la grasa ya saponificada, se añadieron 0,9 ml de cloruro potásico al 1,15%, 1 ml de agua destilada, 3 ml de éter de petróleo con un 0,05% de BHT (butilhidroxitolueno), 2 µg de estándar interno (acetato de alfa tocoferol) y se procedió a su agitación durante 5 minutos. A continuación, los tubos se centrifugaron a 2500 r.p.m. durante 10 minutos.

Tras la centrifugación de los tubos se observaron dos fases bien definidas, una superior de éter de petróleo que contenía los tocoferoles, y otra inferior formada por los residuos de la saponificación. Procedimos a recoger la fase superior con una pipeta Pasteur y la depositamos en un vial topacio. Se añadieron nuevamente 3 ml de éter de petróleo al tubo del que habíamos recogido la fase superior y procedimos igualmente a agitar en un vortex durante 5 minutos y a centrifugar seguidamente. Se recogieron los 3 ml de éter de petróleo de la fase superior que se diferenció tras la centrifugación, y los depositamos en el vial topacio en el que previamente habíamos recogido los primeros 3 ml.

Los extractos recogidos en éter de petróleo y depositados en viales topacio se evaporaron bajo corriente de nitrógeno y se re-disolvieron en un volumen final de 200 µl de etanol absoluto.

Finalmente, los extractos disueltos en 200 µl de etanol se inyectaron en un cromatógrafo de líquidos para llevar a cabo la separación de los tocoferoles (alfa y gamma tocoferol) bajo las siguientes condiciones cromatográficas:

- Columna Lichrcart RP 18 (250 mm x 4 mm x 5 µm de tamaño de partícula).
- Fase móvil metanol:agua (97:3)
- Flujo a través de la columna: 2 ml/min.
- La detección de los isómeros de tocoferol se realizó mediante un detector UV ó DAD fijado a 292 nm.

Para llevar a cabo la identificación y cuantificación de los compuestos objeto de la presente invención se preparó una recta de calibrado con alfa y gamma tocoferol en etanol a las siguientes concentraciones: 10 µg/ml, 5 µg/ml, 2,5 µg/ml, 1,25 µg/ml y 0,62 µg/ml, cada una de las preparaciones contenía 2 µg/ml de patrón interno. La identificación se llevó a cabo por la comparación de los tiempos de retención de las muestras problema con los patrones puros de alfa y gamma tocoferol previamente inyectados. La cuantificación de los compuestos objeto de la presente invención en µg/g se detalla a continuación:

$\mu\text{g/g de alfa o gamma tocoferol} = ((\mu\text{g/ml de alfa o gamma tocoferol de la muestra obtenidos a partir de la cuantificación en la recta de calibrado} \times 0.200)/(\text{gramos de muestra})) \times \text{factor de recuperación.}$

$\mu\text{g/ml de alfa o gamma tocoferol} = ((\text{altura del alfa o gamma tocoferol de la muestra problema/altura del estándar interno}) \times (\mu\text{g/ml de los patrones puros}/\mu\text{g/ml del patrón interno})) / (\text{altura de los patrones puros/altura del estándar interno}).$

$\text{Factor de recuperación} = (\mu\text{g/ml muestra con cantidad añadida de los patrones puros} - \mu\text{g/ml misma muestra utilizada sin adición de patrones puros}) / (\mu\text{g/ml patrón a la misma concentración que la añadida en la muestra}).$

Ejemplo 2

Aplicación del procedimiento en cinco grupos de cerdos

Se establecieron cinco grupos de ocho cerdos distribuidos de modo aleatorio. Durante la fase anterior al cebo todos los animales se alimentaron con un pienso convencional. Durante el periodo de cebo (a partir de los 100 kg de peso vivo) se desarrolló un protocolo de trabajo que permitió obtener cerdos con tiempos variables de estancia en montanera, de modo que los kg engordados en extensivo oscilaron entre 0 kg (lote alimentado todo el periodo con piensos) y 65 kg (cerdos alimentados todo el periodo en montanera). El peso vivo en el momento del sacrificio fue en todos los lotes próximo a los 150 kg.

Los resultados obtenidos tras aplicar el método de análisis a estos cinco lotes experimentales se muestran en la Figura 1. Como puede observarse, existe una relación cuantitativa entre los kg engordados en extensivo (alimentación con bellota y hierba) y la concentración de gamma tocoferol en la grasa subcutánea. La media de los animales alimentados con pienso durante todo el periodo fue de $1,01 \pm 0,757$ µg de gamma tocoferol/g de grasa, no superando ninguno de ellos la concentración de 2 µg/g. Todos los animales de montanera (incluidos aquellos que permanecieron menos de un mes y engordaron en montanera alrededor de 10 kg), mostraron concentraciones de este compuesto superiores a 2 µg/g. La concentración de gamma tocoferol siguió una relación lineal en el rango de pesos estudiados, lo que permite diferenciar animales según los kg repuestos en montanera. Aunque este dato analítico es suficiente en sí mismo, también es interesante observar la concentración de alfa tocoferol en el tejido adiposo del cerdo, ya que guarda una relación cuantitativa con las arrobas engordadas en montanera, aunque en este caso el grupo de animales alimentados con pienso durante todo el periodo ofrece un rango de dispersión considerable (Figura 2). Como índice alternativo o complementario se ha considerado asimismo la relación gamma/alfa tocoferol (Figura 3), que muestra una relación exponencial que permite discriminar entre los animales de pienso, y aquellos alimentados en montanera.

ES 2 275 407 B2

De acuerdo a las ecuaciones de regresión obtenidas en la presente invención y los criterios exigidos por la norma de calidad del cerdo ibérico (RD 1083/2001 de 5 de octubre, BOE 15 octubre 2001) a continuación se detallan los valores de referencia con su correspondiente error estándar de gamma tocoferol y el ratio gamma tocoferol/alfa tocoferol para que un cerdo ibérico se considere cebado en montanera (consumiendo fundamentalmente bellotas y hierba), recebo o pienso:

	Gamma Tocoferol ($\mu\text{g/g}$)	Gamma/Alfa tocof. ($\mu\text{g/g}$)
Montanera (>4@)	5,11 $\pm$ 0.92	0,49 $\pm$ 0,09
Recebo (>2,5@)	3,88 $\pm$ 0.60	0,40 $\pm$ 0,06
Pienso (<2,5 @)	1,17 $\pm$ 0.93	0,098 $\pm$ 0,09

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para diferenciar la alimentación recibida por el cerdo ibérico durante el periodo de cebo, que incluye la cuantificación de alfa y gamma tocoferol en la grasa subcutánea mediante la saponificación de dicha grasa, la extracción y concentración de los compuestos no saponificados, y la separación de dichos alfa y gamma tocoferol.

2. Procedimiento para diferenciar la alimentación recibida por el cerdo ibérico durante el periodo de cebo, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la saponificación de la grasa se lleva a cabo en presencia de calor, hidróxido potásico y pirogalol.

3. Procedimiento para diferenciar la alimentación recibida por el cerdo ibérico durante el periodo de cebo, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la extracción y concentración de los compuestos no saponificados se lleva a cabo mediante la adición de éter de petróleo y posterior evaporación mediante corriente de nitrógeno.

4. Procedimiento para diferenciar la alimentación recibida por el cerdo ibérico durante el periodo de cebo, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la separación de alfa y gamma tocoferol se realiza mediante cromatografía de líquidos.

5. Procedimiento para diferenciar la alimentación recibida por el cerdo ibérico durante el periodo de cebo, según la reivindicación 4, **caracterizado** porque la cromatografía de líquidos para determinar la concentración de gamma y alfa tocoferol, se lleva a cabo mediante una columna apolar en fase reversa utilizando solventes polares (metanol y agua), apareciendo ambos compuestos en un tiempo inferior a 10 minutos.

Fig. 1

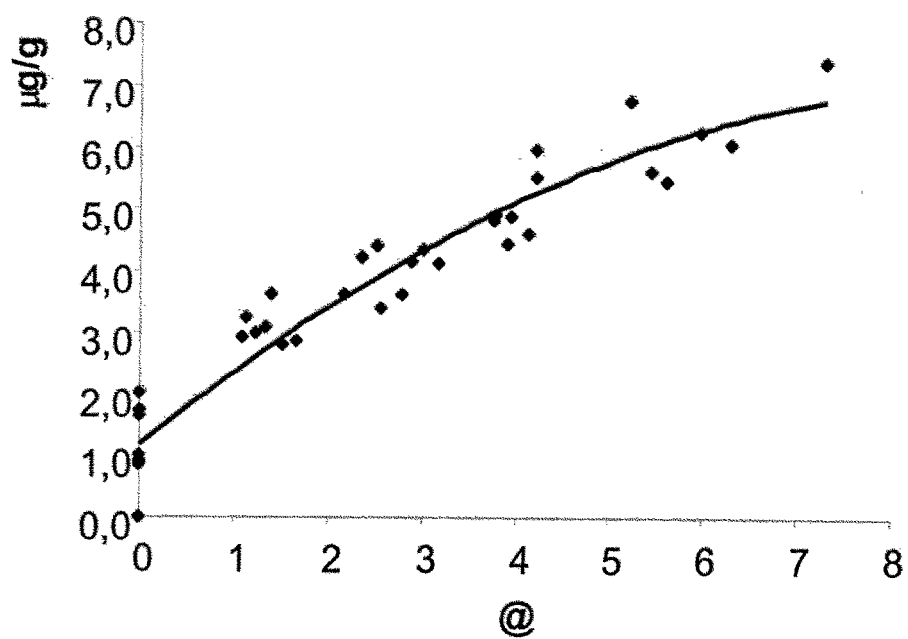


Fig. 2

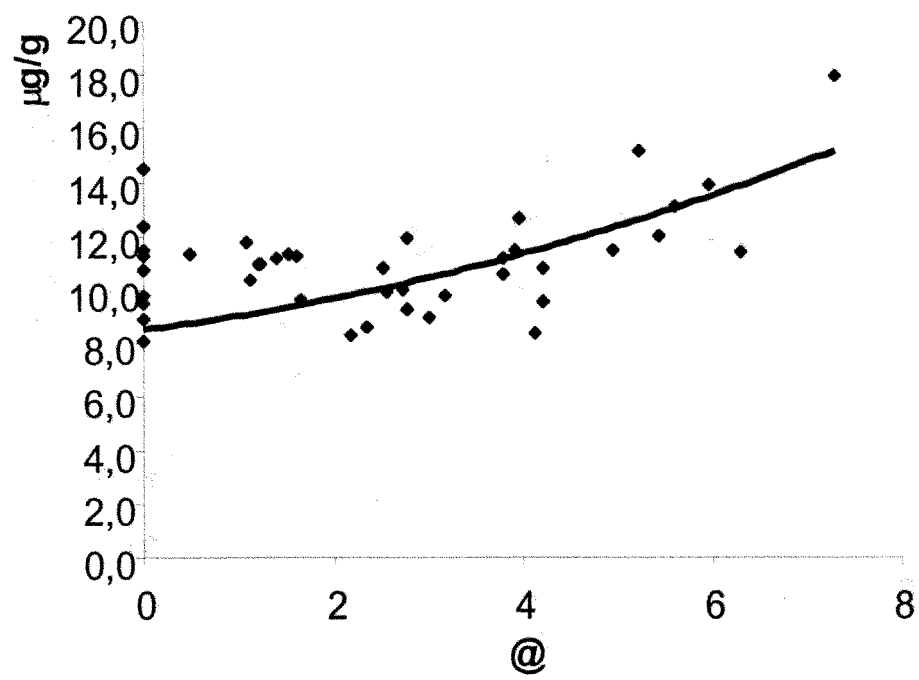
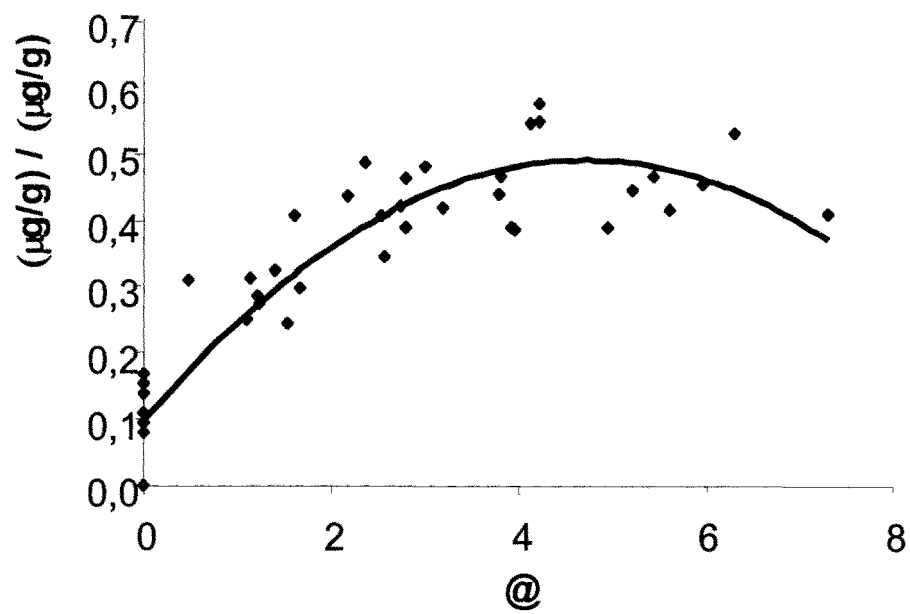


Fig. 3





OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ ES 2 275 407

⑫ Nº de solicitud: 200501198

⑬ Fecha de presentación de la solicitud: 17.05.2005

⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.: G01N 33/12 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	REY, A.I. et al.: "Dietary Acorns Provide a Source of Gamma-Tocopherol to Pigs Raised Extensively", Canadian J. Ani. Sci. (1998), Vol. 78 (3), pp.: 41-443, ISSN 0008-3984, todo el documento.	1
A	ES 2162564 A1 (UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA) 16.12.2001, todo el documento.	1-5
A	ES 2100130 A1 (UNIVERSIDAD DE SALAMANCA) 01.06.1997, todo el documento.	1-5
A	CAVA, R. et al.: "Oxidative and Lipolytic Changes During Ripening of Iberian Hams as affected by Feeding Regime: Extensive Feeding and Alpha-Tocopheryl Acetate Supplementation", Meat Sci. (1999), vol. 52, pp.: 165-172, todo el documento.	1-5
A	TEJEDA, J.F. et al.: "Unsaponifiable Fraction and N-Alkane Profile of Subcutaneous Fat from Iberian Ham", Food Sci. Tech. Int. (1999), vol. 5 (3), pp.: 229-233, todo el documento.	1-5
A	FLORES, J. et al.: "Characterization of Green Hams from Iberian Pigs by Fast Analysis of Subcutaneous Fat", Meat Sci. (1988), vol. 23, pp.: 253-262, todo el documento.	1-5

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

26.04.2007

Examinador

A. Maquedano Herrero

Página

1/1